

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.01.002

· 专题报道 ·

## IL-27 促进人单个核细胞来源树突状细胞的分化成熟及其作用机制

张隽<sup>1</sup>, 田志辉<sup>2</sup>, 刘丽华<sup>1,2</sup>, 赵连梅<sup>1</sup>, 吕红英<sup>1</sup>, 艾军<sup>1</sup>, 单保恩<sup>1</sup> (1. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院 临床生物细胞科, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:**探讨 IL-27 对人外周血单个核细胞来源的树突状细胞(dendritic cell, DC)形态和功能的影响及其作用机制。**方法:**从正常健康人外周血中分离出单个核细胞,将其用 GM-CSF、IL-4 体外培养 7 d,并于培养的第 5 天加入不同刺激因子,并将细胞分为 4 组:阴性对照组、阳性对照组(20 ng/ml TNF- $\alpha$ )、IL-27(20 ng/ml)组、IL-27 + TNF- $\alpha$  组(即双细胞因子组,10 ng/ml TNF- $\alpha$  + 10 ng/ml IL-27)。用倒置显微镜观察培养 7 d 的 DC 形态,用流式细胞术检测 DC 表面共刺激分子 CD1a/CD83 和 CD80/CD86 的水平,RT-PCR 检测 DC 表面趋化因子受体 CCR5、CCR7 mRNA 的表达,混合淋巴细胞实验检测 DC 刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖的能力,Western blotting 检测 DC 信号通路蛋白 P-STAT1/STAT3 的含量。**结果:**IL-27 组和双细胞因子组诱导 7 d 时 DC 呈现典型的成熟形态学特征;DC 表面 CD1a 和 CD83 双阳性表达[(35.75  $\pm$  4.10)%、(52.49  $\pm$  2.65)% vs (23.29  $\pm$  4.49)% ,  $P < 0.05$ ]、CD80 和 CD86 双阳性表达[(39.06  $\pm$  1.61)%、(54.10  $\pm$  0.46)% vs (22.66  $\pm$  3.20)% ,  $P < 0.05$ ]、趋化因子受体 CCR7 mRNA[3.98  $\pm$  0.09、4.75  $\pm$  0.11 vs 3.09  $\pm$  0.18,  $P < 0.05$ ]和转录因子蛋白 P-STAT1/STAT3 水平均较阴性对照组明显上调,而 CCR5 mRNA[0.99  $\pm$  0.03、0.61  $\pm$  0.02 vs 1.23  $\pm$  0.26,  $P < 0.05$ ]表达含量则明显下降;IL-27 组和双细胞因子组 DC 均可明显刺激 T 细胞增殖,且随 DC 与 T 细胞比例增加而增强,以双细胞因子组的刺激作用更为明显。**结论:**细胞因子 IL-27 可以直接或者协同 TNF- $\alpha$  诱导人 DC 分化成熟,并增强 DCs 的抗原提呈功能,其机制可能与活化 P-STAT1/STAT3 信号通路有关。

**[关键词]** 白介素-27;树突状细胞;共刺激分子;趋化因子受体;P-STAT1/STAT3

**[中图分类号]** R730.51; R392.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2012)01-0011-06

## Promotability and mechanism of IL-27 on differentiation and maturation of dendritic cells derived from human peripheral blood mononuclear cells

ZHANG Cong<sup>1</sup>, TIAN Zhi-hui<sup>2</sup>, LIU Li-hua<sup>1,2</sup>, ZHAO Lian-mei<sup>1</sup>, LÜ Hong-ying<sup>1</sup>, AI Jun<sup>1</sup>, SHAN Bao-en<sup>1</sup> (1. Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Clinical Bio-cell, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect and mechanism of IL-27 on the morphology and function of human peripheral blood mononuclear cell (PBMC)-derived dendritic cells (DCs). **Methods:** PBMCs were purified from peripheral blood of healthy adults and incubated with granulocyte/macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and interleukin-4 (IL-4) for 7 days. The DCs were divided into four groups by different stimulatory factors at the fifth day: a negative group, a positive group (TNF- $\alpha$ : 20 ng/ml), IL-27 group (20 ng/ml) and TNF- $\alpha$  + IL-27 group (co-cytokines group, 10 ng/ml TNF- $\alpha$  + IL-27 10 ng/ml). The morphology of DCs was observed under an inverted microscope at the 7th day. The expressions of CD1a and CD83, CD80 and CD86 on DCs were analyzed by flow cytometry. The mRNA levels of chemokine receptors of CCR5 and CCR7 on DCs were analyzed by RT-PCR. The stimulatory ability of DCs on proliferation of allogeneic T cells was detected by MLR. The proteins of P-STAT1 and P-STAT3 were detected by Western blotting.

**[基金项目]** 河北省科技厅科研基金资助项目(No. 10276105D-98);河北省卫生厅科研基金资助项目(No. 20100413);教育部博士点新教师基金课题资助(No. 20101323120004)。Project supported by the Research Foundation of the Science and Technology Bureau of Hebei Province(No. 10276105D-98), the Research Foundation of Health Bureau of Hebei Province(No. 20100413), and the Doctoral Foundation of New Teacher of Ministry of Education of China (No. 20101323120004)

**[作者简介]** 张隽(1985-),女,河北省石家庄市人,硕士生,主要从事肿瘤免疫方面研究。E-mail:zhc90001@126.com

**[通信作者]** 单保恩(SHAN Bao-en, corresponding author),E-mail:baoshan@yahoo.com

**[网络出版]** http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120109.1714.009.html

**Results:** DCs from the IL-27 group and TNF- $\alpha$  + IL-27 group had a typical morphological characteristic of mature DCs after 7 days. The expressions of co-stimulatory molecules of CD1a and CD83 ( $[35.75 \pm 4.10]\%$ ,  $[52.49 \pm 2.65]\%$  vs  $[23.29 \pm 4.49]\%$ ,  $P < 0.05$ ), CD80 and CD86 ( $[39.06 \pm 1.61]\%$ ,  $[54.10 \pm 0.46]\%$  vs  $[22.66 \pm 3.20]\%$ ,  $P < 0.05$ ), chemokine receptor of CCR7 ( $3.98 \pm 0.09$ ,  $4.75 \pm 0.11$  vs  $3.09 \pm 0.18$ ,  $P < 0.05$ ) and the proteins of P-STAT1/STAT3 on DCs were up-regulated both in the IL-27 group and co-cytokines group compared with the negative group, while chemokine receptor of CCR5 ( $0.99 \pm 0.03$ ,  $0.61 \pm 0.02$  vs  $1.23 \pm 0.26$ ,  $P < 0.05$ ) was down-regulated. The proliferation of T cells was improved by DCs from the IL-27 group and TNF- $\alpha$  + IL-27 group. The tendency was especially obvious in the co-cytokines group. **Conclusion:** IL-27 can directly or synergically enhance the differentiation, maturation and antigen presentation ability of DCs with TNF- $\alpha$ . The mechanism might relate to the activation of P-STAT1/STAT3 signal transduction pathway.

[ **Key words** ] interleukin-27, dendritic cell; co-stimulatory molecule; chemokine receptor; P-STAT1/STAT3

[ Chin J Cancer Biother, 2012, 19(1): 11-16 ]

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前已知的功能最强的抗原提呈细胞,在免疫反应中处于重要的中心位置<sup>[1]</sup>。TNF- $\alpha$ 是诱导DC分化成熟最常用的细胞因子之一,可抑制粒系细胞发育,促进DC的成熟<sup>[2]</sup>。白介素-27(interleukin-27, IL-27)是2002年由Pflanz等<sup>[3]</sup>发现并命名的一种新的IL-6/IL-12家族细胞因子,其通过与IL-27受体(IL-27R)结合后发挥多种生物学功能。T细胞表面具有IL-27R, IL-27与之结合后,通过激活P-STAT1/STAT3信号通路,促进CD4<sup>+</sup>T细胞分化成熟,并进一步活化CD8<sup>+</sup>T细胞,发挥免疫调节作用<sup>[4]</sup>。由于DC表面表达IL-27R,本研究探讨IL-27与DC分化成熟之间的关系,为以DC为基础的肿瘤免疫治疗提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

GM-CSF、IL-4及TNF- $\alpha$ 购自Pepprotech公司, RPMI 1640购自Gibco公司,淋巴细胞分离液(Ficoll)购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司,胎牛血清为杭州四季青公司产品。异硫氰酸荧光素标记的兔抗人CD83和CD80抗体、藻红蛋白标记的兔抗人CD1a和人CD86抗体及其同型对照抗体均为美国eBioscience公司产品,RT-PCR试剂盒为美国Promega公司产品,MLR试剂盒为美国Promega公司产品,兔抗人P-STAT1、P-STAT3均为美国Cell Signaling公司产品。PCR引物由上海杰瑞生物制品有限公司合成。

### 1.2 外周血单个核细胞的分离

在无菌条件下采集健康成人外周血20 ml,按1:1的比例与0.9%生理盐水混合后,加到淋巴细胞分离液上层,常温200 × g离心30 min,取白膜层

细胞(外周血单个核细胞层),加入10 ml生理盐水中洗涤,室温1000 × g离心10 min,重复洗涤3次,弃上清。用RPMI 1640完全培养基调整细胞密度至 $1 \times 10^6$ /ml,接种于6孔培养板,3 ml/孔,37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养2 h,弃去悬浮细胞,并加入新鲜培养基,培养终体积为3 ml。

### 1.3 DC体外诱导培养

在上述贴壁细胞中加入GM-CSF(终质量浓度为100 ng/ml)和IL-4(终质量浓度为50 ng/ml)进行DC诱导培养。培养5 d后,阴性对照组只加GM-CSF和IL-4继续培养2 d;阳性对照组加入TNF- $\alpha$ (终质量浓度为20 ng/ml),然后用GM-CSF和IL-4继续培养2 d;IL-27实验组加入IL-27(终质量浓度为20 ng/ml),然后加GM-CSF和IL-4继续培养2 d;双细胞因子组加入IL-27和TNF- $\alpha$ (IL-27终质量浓度为10 ng/ml, TNF- $\alpha$ 终质量浓度为10 ng/ml),然后加GM-CSF和IL-4继续培养2 d。各组均于37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下培养,隔日半量换液,同时补充加入细胞因子,培养7 d后收集悬浮细胞进行后续实验。分别于培养的第3、5和7天,在倒置显微镜下直接观察DC的形态变化。

### 1.4 流式细胞术检测DC的表型

收集培养7 d的各组DC,调整细胞密度至 $1 \times 10^6$ 个/ml, PBS洗涤2次,同时加入相应的荧光素标记的抗体,即FITC-抗CD83和PE-抗CD1a,在另一管中同时加入FITC-抗CD80和PE-抗CD86。于4℃避光反应30 min,流式细胞术检测DC表面共刺激分子的表达。

### 1.5 RT-PCR检测DC表面趋化因子受体在转录水平的表达

首先将从细胞内提出的RNA反转录为cDNA,扩增CCR5基因的上游引物为5'-GTTGGACCAAGC-

TATGCAGGT-3',下游引物为 5'-GCAGAAGCGTTTG-GCAATGT-3';*CCR7* 基因的上游引物为 5'-TCACT-GTCCTCCAAGCCAG-3',下游引物为 5'-AAACAC-CACACTCTCCCCTG-3'。PCR 反应条件如下:*CCR5* 为 94 °C 5 min,95 °C 30 s,64 °C 45 s,72 °C 1 min,共进行 30 个循环,最后再于 72 °C 延伸 5 min;*CCR7* 为 94 °C 5 min,95 °C 30 s,61 °C 45 s,72 °C 30 s,进行 30 个循环,最后再于 72 °C 延伸 5 min。5  $\mu$ l PCR 产物于 1.5% 琼脂凝胶中电泳,以 *GAPDH* 基因作内参照,照相后扫描分析。

### 1.6 混合淋巴细胞反应检测各组 DC 刺激 T 细胞增殖的能力

将不同实验组的 DC 用丝裂霉素 C (25  $\mu$ g/ml) 处理 45 min 后作为刺激细胞,与 T 淋巴细胞按 1:100、1:50 及 1:10 的比例分别加入 96 孔培养板中,终体积为 200  $\mu$ l/孔,每组设 3 个复孔,其中 DC 细胞为  $1 \times 10^3$ /孔。另设单独刺激细胞组和单独 T 细胞组。每孔加入 MLR 试剂 (CellTiter 96 Aqueous One Reagent) 20  $\mu$ l,于 37 °C、5%  $CO_2$  条件下孵育 1~4 h。用酶标仪检测  $D_{490}$  值,结果用 3 孔均值表示。按下式计算刺激指数 (stimulating index, SI), $SI = (\text{实验组 } D \text{ 值} - \text{刺激细胞对照组 } D \text{ 值} - \text{T 细胞组 } D \text{ 值}) / \text{T 细胞组 } D \text{ 值}$ 。

### 1.7 Western blotting 法检测 P-STAT1 和 P-STAT3 蛋白的表达

收集培养至第 7 天的 DC,用冷 PBS 洗 3 次,细胞裂解后抽提总蛋白,BCA 法定量,加热变性,等量蛋白上样进行 SDS-PAGE。电转至 PVDF 膜,用 TBBS 配制的 5% 脱脂奶粉封闭 1 h;分别加入兔抗人 P-STAT1 (1:1 000 稀释)、P-STAT3 (1:1 000 稀释),4 °C 孵育过夜,TTBS 洗膜 3 次,加入兔荧光二抗 (1:10 000),37 °C 孵育 1 h,TTBS 洗膜 3 次后以红外成像仪扫描,对各条带进行分析。

### 1.8 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IL-27 对 PBMC 来源 DC 形态和生长的影响

各组 DC 在早期培养过程中,在倒置显微镜下观察无明显差异。第 1 天可见细胞体积较小且均匀散在分布,呈贴壁生长;第 3 天时贴壁细胞形成集落,表面可见少数悬浮细胞;加入刺激因子 TNF- $\alpha$  和 IL-27 后,到第 7 天时,细胞由聚集状态变为分散

状态,悬浮细胞体积变大,细胞伸出伪足,出现明显的毛刺样结构,为典型的 DC 形态。IL-27 组和 TNF- $\alpha$  + IL-27 组具有与 TNF- $\alpha$  组相似的形态学变化,3 组细胞形态无明显差异。阴性对照组细胞膜突起较少,体积较小,培养至第 7 天时,有部分细胞形态呈梭状巨噬细胞形态(图 1)。结果提示,单独使用 IL-27 可以促进 DC 的成熟,并且减量的 IL-27 与 TNF- $\alpha$  也可发挥协同作用促进 DC 成熟。

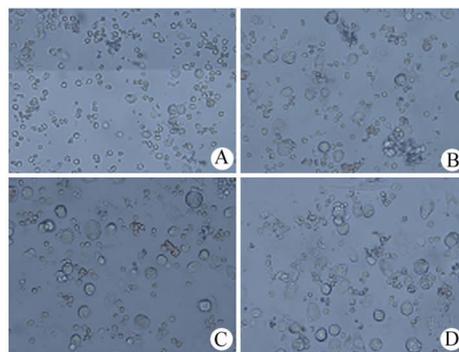


图 1 IL-27 对 PBMC 来源 DC (7 d) 形态的影响 (×400)

Fig. 1 Effect of IL-27 on morphology of PBMC-derived DCs (7 d) (×400)

A: Negative group; B: TNF- $\alpha$  group;

C: IL-27 group; D: TNF- $\alpha$  + IL-27 group

### 2.2 IL-27 上调 DC 表面分子的表达

流式细胞术结果(图 2)显示,TNF- $\alpha$  组、IL-27 组和双细胞因子组 DC 细胞表面 CD1a/CD83 [(42.76  $\pm$  3.50)%、(35.74  $\pm$  4.10)%、(52.49  $\pm$  2.65)% vs (23.29  $\pm$  4.49)% ,  $P < 0.05$ ] 和 CD80/CD86 [(45.56  $\pm$  2.47)%、(39.06  $\pm$  1.61)%、(54.10  $\pm$  0.46)% vs (22.66  $\pm$  3.20)% ,  $P < 0.05$ ] 表达水平较阴性对照组均有明显提高,双细胞因子组 CD1a/CD83 [(52.49  $\pm$  2.65)% vs (42.76  $\pm$  3.50)% ,  $P < 0.05$ ] 和 CD80/CD86 [(54.10  $\pm$  0.46)% vs (45.56  $\pm$  2.47)% ,  $P < 0.05$ ] 表达水平较 TNF- $\alpha$  组明显增加。提示 IL-27 可促进 DC 分化成熟,并协同 TNF- $\alpha$  促进 DC 分化和成熟。

### 2.3 IL-27 对 DC 表面趋化因子受体表达的影响

RT-PCR 结果(图 3)显示,TNF- $\alpha$  组、IL-27 组和双细胞因子组 DC 表面趋化因子受体 *CCR5* mRNA (0.86  $\pm$  0.02、0.99  $\pm$  0.03、0.61  $\pm$  0.02 vs 1.23  $\pm$  0.26,  $P < 0.05$ ) 水平较阴性对照明显降低,而 *CCR7* mRNA (4.14  $\pm$  0.08、3.98  $\pm$  0.09、4.75  $\pm$  0.11 vs 3.09  $\pm$  0.18,  $P < 0.05$ ) 水平明显升高;双细胞因子组的变化最为明显,且与 TNF- $\alpha$  组相比差异有统计学意义 (0.61  $\pm$  0.02 vs 0.86  $\pm$  0.02, 4.75  $\pm$  0.11 vs 4.14  $\pm$

0.08; 均  $P < 0.05$  )。

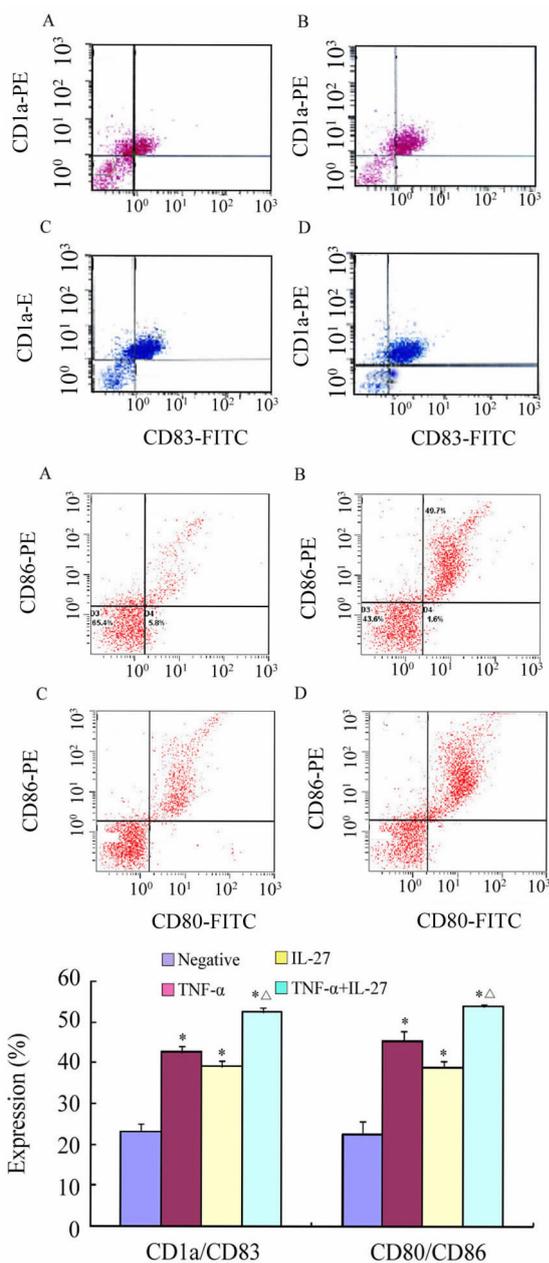


图 2 IL-27 上调 DC 表面分子的表达

Fig.2 Surface molecules expression of DCs up-regulated by IL-27

A: Negative group; B: TNF-α group;

C: IL-27 group; D: TNF-α + IL-27 group.

\*  $P < 0.05$  vs negative group; <sup>Δ</sup>  $P < 0.05$  vs TNF-α group

### 2.4 IL-27 增强 DC 对同种异体 T 细胞增殖的刺激作用

收集各组体外诱导培养 7 d 的 DC 作为刺激细胞, 与同种异体外周血 T 细胞混合培养, 结果(表 1) 显示, 随 DC 细胞比例增高, 诱导同种异型 T 细胞增殖的能力越强, 各组刺激细胞与反应细胞在 1:10 比

例混合时刺激 T 细胞增殖的能力最大 ( $P < 0.05$ )。TNF-α 组、IL-27 组和双细胞因子组 DC 诱导 T 细胞增殖的能力显著高于阴性对照组 ( $P < 0.05$ )。IL-27 组 DC 诱导 T 细胞增殖的能力与 TNF-α 组 DC 无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 双细胞因子组 DC 诱导 T 细胞增殖的能力明显高于 TNF-α 组 ( $P < 0.05$ )。

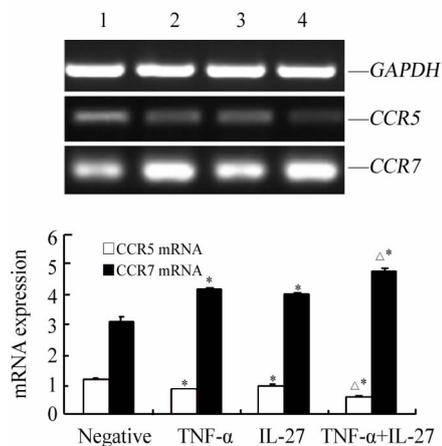


图 3 IL-27 上调 DC 表面趋化因子受体 CCR7 mRNA 而下调 CCR5 mRNA 的水平

Fig.3 IL-27 up-regulating the chemokine receptor CCR7 mRNA and down-regulating CCR5 mRNA expression of DCs

1: Negative group; 2: TNF-α group; 3: IL-27 group;

4: TNF-α + IL-27 group

\*  $P < 0.05$  vs negative group; <sup>Δ</sup>  $P < 0.05$  vs TNF-α group

表 1 DC 对同种异体 T 细胞增殖的刺激作用

Tab.1 Stimulatory effect of DCs on proliferation of allogeneic T cells

Group	DC: T		
	1:100	1:50	1:10
Negative	0.64 ± 0.71	1.53 ± 0.12	3.13 ± 0.08
TNF-α	1.24 ± 0.32	2.93 ± 0.22*	4.12 ± 0.01*
IL-27	1.35 ± 0.25	2.98 ± 0.18*	4.25 ± 0.08*
TNF-α + IL-27	1.62 ± 0.18* <sup>Δ</sup>	3.37 ± 0.25*	4.80 ± 0.13* <sup>Δ</sup>

\*  $P < 0.05$  vs negative group; <sup>Δ</sup>  $P < 0.05$  vs TNF-α group

### 2.5 IL-27 上调细胞内 P-STAT1 和 P-STAT3 水平

Western blotting 结果(图 4)显示, 阴性对照组、TNF-α 组、IL-27 组和双细胞因子组 DC 的转录因子 P-STAT1 和 P-STAT3 的水平依次升高, 以双细胞因子组水平最高。结果提示, IL-27 对 DC 分化成熟的作用可能是通过激活 P-STAT1 和 P-STAT3 信号通

路实现的。

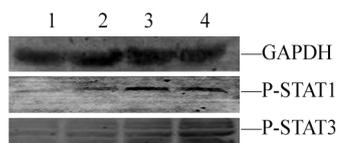


图4 IL-27 上调 DC 细胞内 P-STAT1 和 P-STAT3 蛋白的表达

Fig. 4 Expression of proteins of P-STAT1 and P-STAT3 in DCs up-regulated by IL-27

1: Negative group; 2: TNF- $\alpha$  group;  
3: IL-27 group; 4: TNF- $\alpha$  + IL-27 group

### 3 讨论

DC 是目前已知功能最强的抗原提呈细胞,其最主要的功能是刺激初始 T 细胞增殖,是机体免疫反应的重要启动者<sup>[5]</sup>。DC 是否成熟对其功能的发挥十分重要,未成熟 DC 具有摄取、加工和处理抗原的功能,会导致机体产生免疫耐受<sup>[6]</sup>;只有成熟 DC 才能激活初始 T 细胞增殖,诱导其产生特异性 CTL 效应。目前,已发现了多种可诱导 DC 成熟的刺激因子,如 LPS、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CD40L、溶血磷脂胆碱(LPC)、白介素 15(IL-15)等,但均因具有一定的毒性作用而限制了它们在体内的应用<sup>[7-9]</sup>。DC 表面分布多种细胞因子受体,相应的细胞因子与它们结合,进而影响 DC 的功能,例如 TNF- $\alpha$ 、IL-12、IFN- $\gamma$  等均可以促进 DC 的成熟,而 IL-10 等细胞因子能够抑制 DC 的分化成熟<sup>[10]</sup>。由于 DC 表面表达 IL-27 受体,故本实验探讨了 IL-27 对 DC 分化成熟的影响及其作用机制。IL-27 可以促进人单核细胞和肥大细胞表达 TNF- $\alpha$ <sup>[11]</sup>。Cao 等<sup>[12]</sup>也证明 IL-27 可协同 TNF- $\alpha$  调节人支气管上皮细胞的功能。故本实验进一步考虑应用小剂量 IL-27 联合 TNF- $\alpha$ <sup>[11]</sup>,以更好地促进 DC 的成熟,为临床肿瘤生物治疗提供新的治疗思路。

外周血单个核细胞诱导分化成为 DC 的过程中,其在形态学、细胞表型、生物学性状等方面都发生了改变。本实验选择了其中一些指标进行检测,结果发现符合 DC 由未成熟阶段向成熟阶段分化发育过程中表型变化的特点。经 IL-27 刺激的 DC 具有成熟 DC 的典型形态学特征,表现为细胞体积较大、形态不规则、表面有大量树突状或星形突起。CD1a/CD83 和 CD80/CD86 是 DC 的特异性标志,也是 DC 成熟的标志。通过流式细胞术表型分析发

现,IL-27 组 DC 高表达 CD1a/CD83 和 CD80/CD86。研究<sup>[13]</sup>发现,随着 DC 成熟,DC 表面 CCR7 mRNA 表达水平升高,而 CCR5 mRNA 表达水平则降低。为了进一步说明 DC 的成熟度,本研究用 RT-PCR 的方法分析了这些趋化因子受体的表达情况:经 IL-27 诱导的 DC 中 CCR5 mRNA 表达下降,CCR7 mRNA 表达升高。MLR 反映 DC 的免疫原性。经 IL-27 刺激而获得的 DC 具有很强的促进 T 细胞增殖的能力,其作用强度与 TNF- $\alpha$  相近,且随 DC 数量的增加以及增强。这些结果在双细胞因子组表现得更为明显,说明 IL-27 既可单独诱导 DC 分化成熟,又可协同 TNF- $\alpha$  更好地诱导 DC 分化成熟。

Janus 激酶/信号转导以及转录激活子(Janus-activated kinase signal transducer and activator of transcriptions, JAK/STAT)信号通路是许多细胞因子受体的共有信号通路,广泛参与细胞增殖、分化以及免疫调节等过程<sup>[14]</sup>。据报道<sup>[15]</sup>,IL-12 主要通过 JAK2/STAT4 信号通路促进 Th1 型细胞的分化,并诱导 NK 细胞和 T 细胞产生 IFN- $\gamma$ ;IL-23 主要通过激活 STAT3 信号通路,作用于记忆性 CD4<sup>+</sup> T 细胞,产生 IL-17 和 IL-22 等细胞因子<sup>[16-17]</sup>;IL-27 主要激活 JAK1/STAT1 和 JAK1/STAT3 信号转导通路,诱导初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞向 Th1 型细胞分化,并促进其产生 IFN- $\gamma$ <sup>[18-19]</sup>。Welte 等<sup>[20]</sup>研究发现,一些 STATs 在小鼠 DC 成熟的过程中发挥重要作用。Ju 等<sup>[21]</sup>发现,TNF- $\alpha$  诱导脐血来源 DC 分化成熟的过程中,STAT1、STAT3、STAT5a 和 STAT6 蛋白水平升高。本研究发现,阴性对照组、阳性对照组、IL-27 实验组和双细胞因子组的 P-STAT1 和 P-STAT3 蛋白的表达水平依次升高,以双细胞因子组表达水平最高。推测 IL-27 可能通过激活 P-STAT1 和 P-STAT3 信号通路,或者 IL-27 可以协同 TNF- $\alpha$  更好地激活该信号通路,促进 DC 成熟。

总之,IL-27 可以单独或者协同 TNF- $\alpha$  诱导培养出形态和功能上与常规 TNF- $\alpha$  等细胞因子培养诱导体系相似的 DC。IL-27 与 TNF- $\alpha$  联合应用后,用量减半即可发挥明显促进 DC 成熟的作用,避免了大剂量细胞因子使用时可能出现的毒性作用,有利于在临床推广应用。

### [参考文献]

- [1] Hideki U, Eynav K, Nathalie S, et al. Targeting human dendritic cell subsets for improved vaccines [J]. Semin Immunol, 2011, 23(1): 21-27.
- [2] 茹颖,宋红梅,李航,等. TNF- $\alpha$  促进树突状细胞分化成熟的实验研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(5): 1265-

- 1268.
- [ 3 ] Liu LH, Wang SJ, Shan BE, et al. IL-27-mediated activation of natural killer cells and inflammation produced antitumor effects for human esophageal carcinoma cells [ J ]. *Scand J Immunol*, 2008, 68( 1 ): 22-29.
- [ 4 ] 单保恩. IL-12 家族细胞因子: 肿瘤免疫治疗研究的热点分子 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18( 3 ): 239-243.
- [ 5 ] Delgado M. Generating tolerogenic dendritic cells with neuropeptides [ J ]. *Hum Immunol*, 2009, 70( 5 ): 300-307.
- [ 6 ] Sanchez-Sanchez N, Riol-Blanco L, de la Rosa G, et al. Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells [ J ]. *Blood*, 2004, 104( 3 ): 619-625.
- [ 7 ] 彭卫斌, 沙卫红, 李瑜元, 等. 人外周血单核细胞来源的树突状细胞的体外诱导 [ J ]. *实用医学杂志*, 2010, 26( 10 ): 1701-1704.
- [ 8 ] 李胜富, 冯刚, 步宏, 等. 成人外周血来源树突状细胞体外诱导培养及成熟调控 [ J ]. *J Biomed Eng*, 2002, 19( 2 ): 268-272.
- [ 9 ] Skalova K, Mollova K, Michalek J. Human myeloid dendritic cells for cancer therapy: Does maturation matter? [ J ]. *Vaccine*, 2010, 28( 32 ): 5153-5160.
- [ 10 ] Trepikias R, Pedersen AE, Met O, et al. Addition of interferon-alpha to a standard maturation cocktail induces CD38 up-regulation and increases dendritic cell function [ J ]. *Vaccine*, 2009, 27( 16 ): 2213-2219.
- [ 11 ] Pflanz S, Hibbert L, Mattson J, et al. WSX-1 and glycoprotein 130 constitute a signal transducing receptor for IL-27 [ J ]. *J Immunol*, 2004, 172( 4 ): 2225-2231.
- [ 12 ] Cao J, Wong CK, Yin Y, et al. Activation of human bronchial epithelial cells by inflammatory cytokines IL-27 and TNF- $\alpha$ : Implications for immunopathophysiology of airway inflammation [ J ]. *J Cell Physiol*, 2010, 223( 3 ): 788-797.
- [ 13 ] Hirao M, Onai N, Hiroishi K, et al. CC Chemokine receptor-7 on dendritic cells induced after interaction with apoptotic tumor cells: Critical role in migration from the tumor site to draining lymph nodes [ J ]. *Cancer Res*, 2000, 60( 8 ): 2209-2217.
- [ 14 ] Bäumer D, Trauner J, Hollfelder D, et al. JAK-STAT signalling is required throughout telotrophic oogenesis and short-germ embryogenesis of the beetle *tribolium* [ J ]. *Dev Biol*, 2011, 350( 1 ): 169-182.
- [ 15 ] Canda-Sanchez A, Salgado FJ, Perez-Diaz A, et al. IL-12-dependent activation of ERK1/2 in human T lymphoblasts [ J ]. *Immunobiology*, 2009, 214( 3 ): 187-196.
- [ 16 ] de Paus RA, van de Wetering D, van Dissel JT, et al. IL-23 and IL-12 responses in activated human T cells retrovirally transduced with IL-23 receptor variants [ J ]. *Mol Immunol*, 2008, 45( 15 ): 3889-3895.
- [ 17 ] Li X, Kim KW, Cho ML, et al. IL-23 induces receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand expression in fibroblast-like synoviocytes via STAT3 and NF- $\kappa$ B signal pathways [ J ]. *Immunol Lett*, 2010, 127( 2 ): 100-107.
- [ 18 ] Wang H, Meng R, Li Z, et al. IL-27 induces the differentiation of Tr1-like cells from human naive CD4<sup>+</sup> T cells via the phosphorylation of STAT1 and STAT3 [ J ]. *Immunol Lett*, 2011, 136( 1 ): 21-28.
- [ 19 ] Xu M, Mizoquchi I, Morishima N, et al. Regulation of antitumor immune responses by the IL-12 family cytokines, IL-12, IL-23, and IL-27 [ J ]. *Clin Dev Immunol*, 2010, 22( 1 ): 1-9.
- [ 20 ] Welte T, Koch F, Schuler G, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induces a unique set of STAT factors in murine dendritic cells [ J ]. *Eur J Immunol*, 1997, 27( 10 ): 2737-2740.
- [ 21 ] Ju XS, Hacker C, Madruqa J, et al. Towards determining the differentiation program of antigen-presenting dendritic cells by transcriptional profiling [ J ]. *Eur J Cell Biol*, 2003, 82( 2 ): 75-86.
- [ 收稿日期 ] 2011-11-09 [ 修回日期 ] 2012-01-12  
[ 本文编辑 ] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示( pH 用正体除外),例如  $m$ (质量)、 $t$ (时间)、 $c$ (浓度)、 $V$ (体积)、 $p$ (压力)、 $F$ (力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg·d)或 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号 A°(埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm<sup>3</sup>);力的单位“牛顿”符号为 N(不是 dyn(达因)、kgf(千克力),换算 1 dyn = 10<sup>-5</sup> N);热量单位“焦耳”符号为 J(不是 cal(卡)、kcal(千卡),换算 1 cal = 4.187 J);放射性活度单位符号为 Bq(不是 Ci(居里),换算 1 Ci = 3.7 × 10<sup>10</sup> Bq)。

(本刊编辑部)